



# 

#### (43) 国際公開日 2005 年4 月14 日 (14.04.2005)

#### **PCT**

### (10) 国際公開番号 WO 2005/033324 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C12P 7/56, C12N 1/21, 15/09

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/014037

(22) 国際出願日: 2004年9月17日(17.09.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願2003-342222 2003 年9 月30 日 (30.09.2003) JP 特願2003-342165 2003 年9 月30 日 (30.09.2003) JP 特願2003-340062 2003 年9 月30 日 (30.09.2003) JP 特願2004-150252 2004 年5 月20 日 (20.05.2004) JP 特願2004-150253 2004 年5 月20 日 (20.05.2004) JP

- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 三井化学株式会社 (MITSUI CHEMICALS, INC.) [JP/JP]; 〒105-7117 東京都港区 東新橋一丁目5番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 和田 光史 (WADA, Mitsufumi) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原 市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 及川 利洋 (OIKAWA, Toshihiro) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 望月 大資 (MOCHIZUKI, Daisuke) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原市 東郷 1 1 4 4 三井化学 株式会社内 Chiba (JP). 徳田 淳子 (TOKUDA, Junko) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 川島 美由貴 (KAWASHIMA, Miyuki) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂 原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 安 楽城 正 (ARAKI, Tadashi) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 阿部 玲子 (ABE, Reiko) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂 原市 東郷 1 1 4 4 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 三

宅仁基 (MIYAKE,Hitoki) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県茂原市東郷1144 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 高橋 均 (TAKAHASHI,Hitoshi) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県茂原市東郷1144 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 澤井 秀樹 (SAWAI,Hideki) [JP/JP]; 〒248-0036 神奈川県 鎌倉市 手広111 番地 東レ株式会社内 Kanagawa (JP). 耳塚 孝 (MIMIZUKA,Takashi) [JP/JP]; 〒248-0036 神奈川県 鎌倉市 手広1111番地 東レ株式会社内 Kanagawa (JP). 森重 敬 (MORISHIGE,Takashi) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原市東郷1144 三井化学株式会社内 Chiba (JP). 東庸介 (HIGASHI,Yosuke) [JP/JP]; 〒297-0017 千葉県 茂原市東郷1144 三井化学株式会社内 Chiba (JP).

- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

## 添付公開書類:

- 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: BIOCATALYST FOR PRODUCING D-LACTIC ACID

(54) 発明の名称: D-乳酸菌生産用生体触媒

(57) Abstract: It is intended to provide a process for highly producing D-lactic acid. It is also intended to provide a process for highly selectively producing D-lactic acid having a high optical purity with the formation of little organic acids as by-products. D-Lactic acid is produced by culturing a microorganism having inactivated or lowered pyruvate formate-lyase activity and elevated *Escherichia coli*-origin NADH-dependent D-lactic acid dehydrogenase (ldhA) activity, a microorganism having inactivated or lowered FAD-dependent D-lactic acid dehydrogenase activity, or a microorganism as described above having a TCA cycle, inactivated or lowered malic acid dehydrogenase activity and inactivated or lowered aspartic acid ammonia-lyase activity. The ldhA activity is elevated by ligating a gene encoding ldhA to a promoter of a gene controlling the expression of a protein, which participates in a glycolysis system, a nucleic acid biosynthesis system or an amino acid biosynthesis system, on genome.

7O 2005/033324 A1

### (57) 要約:

本発明の課題はD-乳酸の高生産方法を提供し、また、光学純度が高く、副生有機酸が少ない高選択的なD-乳酸の生産方法を提供することにある。

ピルベートホルメートリアーゼ活性が不活化或いは低減化され、且つエシェリヒア・コリ由来NADH依存性D-乳酸デヒドロゲナーゼ(1dhA)活性が増強された微生物、FAD依存性D-乳酸デヒドロゲナーゼが不活化或いは低減化された微生物、または上記微生物であって、TCA回路を有し、且つリンゴ酸デヒドロゲナーゼ活性が不活化或いは低減化され、且つアスパラギン酸アンモニアリアーゼ活性が不活化或いは低減化された微生物を培養しD-乳酸を生産する。1dhA活性は、1dhAをコードする遺伝子をゲノム上において、解糖系、核酸生合成系またはアミノ酸生合成系に関わる蛋白質の発現を司る遺伝子のプロモーターと連結することにより増強させる。